Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Schlipköter
Abteilung für experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. W. Hilscher
und
aus dem Institut für Toxikologie der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. F. K. Ohnesorge

Enzymhistochemische und histologische Untersuchungen zur Wirkung einer chronischen Cadmiumbelastung auf den Testis der Ratte

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Norbert Grittern und Karl Paulus
1983

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr.med. H.-W. Schlipköter

Abteilung für experimentelle Pathologie

Leiter: Professor Dr.med. W. Hilscher

und

aus dem Institut für Toxikologie der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr.med. F.K. Ohnesorge

Enzymhistochemische und histologische Untersuchungen zur Wirkung einer chronischen Cadmiumbelastung auf den Testis der Ratte

D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Norbert Grittern

und

Karl Paulus

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Hilscher

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Böttger

In Dankbarkeit meiner Mutter und
meinem heute verstorbenen Vater gewidmet.

Trier, den 15. Januar 1984
Karl Paulus

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0013

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	2
A Verarbeitung der Testes	2
(1) Enzymhistochemische Methoden	3
(2) Histologische Methoden	3
B Morphometrische Auswertung	4
Resultate	5
A Enzymhistochemische Ergebnisse	6
B Histologische Ergebnisse	8
Diskussion	10
Zusammenfassung	12
Legenden	14
Literatur	16

Einleitung

Für die Beurteilung toxischer Wirkungen von Schadstoffen auf den menschlichen oder tierischen Organismus sind Untersuchungen der Beeinflussung der Fortpflanzung besonders wichtig. Dabei treten nicht selten Diskrepanzen zwischen den histologischen Befunden an den Reproduktionsorganen und den Ergebnissen reproduktionstoxikologischer Studien auf. Auch von Cadmium ist bekannt, daß es Schäden in den Fortpflanzungsorganen, besonders in den Testes verursacht. Allerdings wurden diese Schäden durch Injektionen hoher Cadmiummengen verursacht. Dagegen ist über die chronische Wirkung niedriger Cadmiummengen nach oraler Applikation noch wenig bekannt. Barr (1973) gibt an, daß ab einem Dosisbereich von 200 mg Cadmium/kg Futter und darüber histologisch nachweisbare Hypoplasien des Hodengewebes auftreten sollen. In dem von uns durchgeführten Versuch sollte unter Umwelt-relevanten Versuchsbedingungen der Einfluß von oral appliziertem Cadmium auf die Reproduktionsorgane untersucht werden.

Im Rahmen eines umfassenden Versuches, bei dem je 150 weibliche und männliche Ratten, aufgeteilt in drei Versuchgruppen mit 0, 10 und 100 mg Cd/l, über das Trinkwasser Cadmium erhalten hatten, wurden enzymhistochemische und histologische Untersuchungen verschiedener Organe sowie ein ausgedehnter Paarungsversuch durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit soll über die Ergebnisse der enzymhistochemischen (Untersucher GRITTERN) und histologischen (Untersucher PAULUS) Untersuchungen der Testes der Kontrolltiere und der Cadmium-belasteten Tiere der drei Versuchsgruppen berichtet werden. Tiere aus den drei Versuchsgruppen waren nach 13, 52 und 182 Tagen bzw. nach Beendigung des Verpaarungsversuches getötet worden. Die in den Verpaarungsversuch genommenen Tiere finden in dieser Arbeit keine Berücksichtigung.

* Herrn Dr.med.vet.J.Abel aus dem Institut für Toxikologie der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof.Dr.med. F.K.Ohnesorge) danken wir für die toxikologische Betreuung der Tierversuche und die Überlassung der toxikologischen Befunde.

Material und Methoden

Weibliche und männliche Wistar Ratten erhielten ab einem Alter von ca. 3 Monaten 0 , 10 und 100 mg Cd/l (50 Tiere pro Dosis und Geschlecht) über ein Zeitintervall von bis zu 182 Tagen mit dem Trinkwasser . Nach 13, 52 und 182 Versuchstagen wurden je 10 Tiere aus den verschiedenen Dosierungsgruppen in Äther getötet, Lebern, Nieren und Gonaden entnommen und histologisch bzw. enzymhistochemisch untersucht. Zusätzlich wurden in den Lebern und Nieren der Tiere als Parameter für die Cadmiumbelastung die Metallothioneinkonzentrationen bestimmt.

Die Versuchstiere wurden in folgende Gruppen eingeteilt:

A = 13 Tage nach Versuchsbeginn,
B = 52 Tage nach Versuchsbeginn,
C = 182 Tage nach Versuchsbeginn

Jede Gruppe wurde untergliedert in die Untergruppen

I = 10 mg Cd/l Trinkwasser
II = 100 mg Cd/l Trinkwasser
III = 0 mg Cd/l Trinkwasser = unbehandelte Kontrollgruppe

A Verarbeitung der Testes

Unmittelbar nach der Tötung der Tiere wurden die Organe herauspräpariert und gewogen. Alternierend wurden jeweils die rechten bzw. linken Testes für die Enzymhistochemie bzw. für die Paraffinhistologie benutzt.

(1) Enzymhistochemische Methoden

Die Testes wurden in Haushaltsfolie gehüllt und in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Dadurch sollte die Ausprägung von größeren und kleineren Gefrierschäden (des Organs und der Zellen) vermieden werden.

Die Blöcke und später auch die fertigen Kryostatschnitte wurden bei - 80° C gelagert, um die Verluste an Enzymaktivität möglichst gering zu halten. Es wurde darauf geachtet, daß der Zeitabschnitt zwischen Gewebsentnahme und Durchführung der histochemischen Reaktionen 5 Tage nicht überschritt.

Die 8 - 10 µm dicken Kryostatschnitte wurden bei - 20° C hergestellt. Die Aktivität der Thiaminpyrophosphatase (TPP-ase) wurde nach der Calcium-Kobalt-Methode von Allen & Slater (1961) dargestellt. Die Mitreaktion von alkalischen Phosphatasen wurde durch Zusatz von L-Cystein geblockt (Allen & Slater 1959,1961; Pearse 1972; Lojda, Gossrau & Schiebler 1976). Die Inkubationszeit betrug 15 Minuten.

Zur besseren Übersicht wurde ein Teil der Schnitte mit Hämatoxilin gegengefärbt.

(2) Histologische Methoden

Die für die histologische Bearbeitung vorgesehenen Hoden wurden unmittelbar nach der Entnahme in Bouin`scher Lösung fixiert. Um eine bessere Gewebserhaltung zu gewährleisten, wurden die Organe nach dem Anfixieren halbiert. Nach der Fixierung erfolgte die Entwässerung der Gewebsstücke in der aufsteigenden Alkoholreihe und in Xylol sowie ihre anschließende Einbettung in Paraplast .

Die 3 µm dicken Schnitte wurden mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt.

B Morphometrische Auswertung

Die Messungen der Reaktionszonen der TPP-ase in den Kryostatschnitten und der verschiedenen Gewebsanteile in den paraffinhistologischen Präparaten erfolgten mit dem A.S.M. (Analyse System Manuell) der Firma Leitz, Wetzlar.

Pro Tötungstermin und Behandlungsgruppe kamen die enzymhistochemischen Präparate von 5 Tieren pro Gruppe, d.h. von insgesamt 45 Tieren, zur Auswertung. Pro Tier wurden in den pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII der Spermatogenese der Ratte nach Leblond & Clermont (1952 a, b) je 100 Reaktionszonen der TPP-ase vermessen.

Paraffinschnitte wurden von je 10 Tieren pro Gruppe und Termin, d.h. von insgesamt 90 Tieren, morphometrisch ausgewertet.
Dabei wurden folgende Parameter bestimmt:
1) Fläche von 10 Tubulusquerschnitten von annähernd rund angeschnittenen Tubuli seminiferi in Stadium XII der Spermatogenese der Ratte,
2) Fläche der Lumina dieser Tubulusquerschnitte,
3) Anzahl der in diesen Tubulusquerschnitten vorgefundenen Kernanschnitte von pachytänen Spermatocyten,
4) Kernflächen von 100 pachytänen Spermatocyten pro Tier.

Resultate

Während der Versuchsperiode waren sowohl die Zunahme des Körpergewichts der Tiere als auch der Trinkwasserverbrauch regelmäßig kontrolliert worden. Die Körpergewichtszunahme der Tiere war bei beiden Geschlechtern nur in der höchsten Dosisgruppe (100 mg Cd/l) negativ beeinflußt worden. Die Metallothioneingehalte in den Lebern (Abb.1) und Nieren der Tiere nahmen in Abhängigkeit von der Cadmiumdosis und der Versuchsdauer zu. Die Metallothioneingehalte der Nieren (Abb.2) lagen deutlich unter denen der Lebern und betrugen in der höchsten Dosisgruppe nach 182 Tagen 30 nMol MT/g Niere im Gegensatz zu 75 nMol MT/g Leber. Die Metallothioneingehalte in den Organen der weiblichen Tiere waren deutlich niedriger als die in den männlichen Tieren (Abb.3). Bei den Kontrolltieren (0 mg Cd/l) blieben die Metallothioneingehalte in Lebern (13 nMol MT/g) und Nieren (6 nMol MT/g) unverändert.

Die Summen der Gewichte der linken + rechten Testes der Tiere der Versuchsgruppen A, B und C nahmen mit zunehmendem Alter zu. Es gab jedoch zu keinem Zeitpunkt irgendeinen Dosiseffekt auf das Gewicht. Das relative Testisgewicht, bezogen auf das Körpergewicht der Tiere, war in der Gruppe CII (100 ppm Cd, 6 Monate nach Versuchsbeginn) signifikant erhöht gegenüber den Kontrollen. Dieser Befund resultierte aus der geringeren Gewichtszunahme der Cadmiumtiere, gemessen an den Kontrollen, bei gleichhohen Testisgewichten.

A Enzymhistochemische Ergebnisse

Die arithmetischen Mittelwerte sowie der 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für die Flächen der TPP-ase Reaktionszonen der pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII (angegeben in μm^2) sind in Tabelle 1 niedergelegt.

Tabelle 1

Cd-Gruppe	Mittelwert	95 % Vertrauensbereich von	bis
AI	11.472	9.540	13.404
AII	13.326	11.026	15.626
AIII	11.686	9.702	13.670
BI	11.870	8.047	15.693
BII	24.366	17.055	31.677
BIII	9.058	7.394	10.722
CI	11.354	10.175	12.533
CII	10.630	6.071	15.189
CIII	7.280	6.415	8.145

Bei den Kontrolltieren ist die Ausdehnung der TPP-ase positiven Reaktionszonen abhängig vom Alter der Tiere: sie ist bei den jungen Tieren 13 Tage nach Versuchsbeginn deutlich größer als bei den ausgewachsenen Tieren der Gruppen B und C.
Die 100 ppm-Dosis bewirkt bei den Tieren 13 und 52 Tage nach Versuchsbeginn eine deutliche bzw. hochsignifikante Vergrößerung der Reaktionszonen, nach 6 Monaten liegen die Werte z. T. wieder im Normbereich, allerdings ist die Streuung des Mittelwertes bzw. die Spanne des Vertrauensbereiches sehr groß. Die 10 ppm-Dosis zeigt mit zunehmender Versuchsdauer eine ansteigende Wirkung, die sich in der Vergrößerung der Reaktionszonen manifestiert.

Die Berechnung der geometrischen Mittelwerte führte zu gleichartigen Ergebnissen.

In den Diagrammen der Abbildungen 4, 5 und 6 ist die Häufigkeitsverteilung der Ausdehnung der TPP-ase positiven Reaktionszonen im Bereich des Golgiapparates der pachytänen Spermatocyten in Stadium XII aufgetragen .

Während die Kurve bei den Kontrolltieren bei allen drei Terminen eine "schöne" Glockenform zeigt, sind bei 10 ppm die Verteilungskurven leicht nach rechts zu den höhrene Größenklassen der Reaktionsareale verschoben und abgeflacht, bei 100 ppm zeigt sich nach 13 und 52 Tagen eine noch stärkere Rechtsverschiebung; insbesonders nach 52 Tagen ergibt sich eine ganz flache Verteilung, d.h. es finden sich hier viele große diffus verlaufende Reaktionszonen und kaum noch normale umschriebene Reaktionsareale, wie in den Abbildungen 7 und 8 dargestellt ist. Nach 182 Tagen hat sich in der 100 ppm Gruppe der Kuvenverlauf normalisiert, nur die Kurve, die sich aus den Werten der mit 10 ppm belasteten Tiere zusammensetzt, ist weiterhin deutlich zu den höheren Größenklassen hin verschoben.

B Histologische Ergebnisse

Die Ergebnisse der morphometrischen Auswertung der paraffinhistologischen Schnitte sind in Tabelle 2 und Abbildung 9 dargestellt.

Tabelle 2

Cd-Gruppe	Tubulus-fläche	Lumen-fläche	Gewebs-fläche	Anz. von pach. SpcK pro Tub.	Fl. von 1 pach SpcK	Fläche aller pach. SpcK pro Tub.	Rest-fläche nach Abzug aller pach. SpcK	% Fläche bedeckt von pach. SpcK pro Tubulus
A I	53719.3	6808.6	46910.7	71.9	74.0	5332.30	41578.4	11.36690
AII	55643.9	8775.9	46868.0	71.5	76.2	5450.10	41417.9	11.62860
AIII	53171.8	7626.9	45544.9	69.2	73.3	5080.20	40464.7	11.15430
BI	58147.9	10556.2	47923.6	57.8	72.3	4179.90	43743.7	8.72201
BII	57628.7	9905.9	47722.8	60.2	81.5	4907.00	42815.8	10.28230
BIII	59299.1	10913.2	48386.0	60.2	70.6	4252.00	44134.0	8.78767
CI	61191.3	11358.5	49832.8	68.9	70.4	4847.00	44985.8	9.72653
CII	61144.7	10962.8	50181.9	68.5	70.7	4853.60	45328.3	9.67201
CIII	59893.3	11083.0	48810.3	62.7	69.0	4338.00	44472.3	8.88747

Die in Tabelle 2 aufgeführten geometrischen Mittelwerte für die Flächen sind in μm^2 angegeben. Bei der Anzahl der pachytänen Spermatocytenkerne handelt es sich um "crude counts", d.h. der Durchmesser der Kerne und die Schnittdicke wurden nicht berücksichtigt.
Wie aus Abb. 9 zu ersehen ist, nimmt das Testisgewicht altersabhängig kontinuierlich zu, es zeigt sich zu keinem Zeitpunkt ein Behandlungseffekt.

Die histologischen Auswertungen beziehen sich - genau wie die enzymhistochemischen Untersuchungen - jeweils auf das Stadium XII der Spermatogenese der Ratte.
Die Flächen der Tubulusquerschnitte zeigen in allen drei Gruppen eine geringfügige Zunahme vom ersten zu den zwei weiteren Untersuchungsterminen; singifikante Gruppenunterschiede gibt es jedoch nicht.

Das Kernvolumen der pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII ist nach 52 Tagen in der Gruppe der Tiere, die 100 ppm Cd/l über das Trinkwasser erhalten hatten, signifkant gegenüber der Kontrollgruppe und auch gegenüber der 10 ppm Gruppe erhöht.
Berücksichtigte man das Kernvolumen der pachytänen Spermatocyten, so wäre die Anzahl der Kerne (Tabelle 1, Spalte 5) pro Tubulusquerschnitt in der Gruppe der Tiere, die 52 Tage lang 100 ppm Cd erhalten hatten, deutlich erniedrigt. Da es sich bei den Werten in Tabelle 1 jedoch um crude counts, d.h. um Zählungen ohne Berücksichtigung der Größenverteilung der pachytänen Spermatocyten handelt, bleiben die Werte annähernd gleich. Diese nach 52 Tagen deutlich ausgeprägte Kernschwellung ist jedoch reversibel, wie die Werte der Tiere der 6 Monatsgruppe zeigen.

Diskussion

Bereits nach 13 Tagen Versuchsdauer finden sich in der Gruppe A II (100 mg Cd /kg KG) Veränderungen in der Ausdehnung der Reaktionszonen der pachytänen Spermatocyten in Stadium XII, die sich in einer Größenzunahme einzelner Reaktionsfelder und damit in einer Erhöhung der Standardabweichung bzw. einer Verbreiterung der Verteilung äußert.

Nach 52 Tagen Versuchsdauer ist dieser Befund in der Gruppe II noch ausgeprägter. Die gefundenen Veränderungen stimmen mit Befunden von REHMANN (1981) überein (Abb.10), der mit der gleichen Untersuchungsmethode arbeitete und bei einer Grenzdosis von 0.94 mg $CdCl_2$/kg KG, das einmalig i.p. injiziert worden war, nach 24 bzw. 48 Stunden Versuchsdauer eine ähnliche Größenzunahme der Reaktionszonen und deren Verteilung fand.

Dieser enzymhistochemische Befund wird gestützt durch die an Paraffinschnitten gewonnenen Daten über die Kerngröße, die eine eindeutige Volumenzunahme der Kerne bzw. eine Kernschwellung belegen.

Nach einem halben Jahr ähneln die enzymhistochemisch gewonnenen Werte (Abb.6) sowie die Daten über die Kerngrößen weitgehend der Norm. Dies wird als "Gewöhnungseffekt", d.h. als Ausdruck einer Adaptation an die Verabreichung der Noxe interpretiert.

Ein weiterer Befund der morphometrischen Untersuchung der Paraffinschnitte ist die Flächenzunahme der Tubulusquerschnitte und ihrer Lumina. Die Tatsache, daß diese Veränderungen auch bei den Kontrolltieren zwischen dem ersten und dem zweiten Untersuchungstermin zu beobachten sind, weist darauf hin, daß die Flächenzunahme der Tubulusquerschnitte auf eine weitere Entfaltung des Sertolizellcytoplasmas am Ende der Wachstumsphase der Tiere zurückzuführen ist.

Durch die vorliegende Arbeit konnte gezeigt werden, daß die enzymhistochemischen Untersuchungsergebnisse des Langzeitversuchs, bei dem das Cadmium im Trinkwasser angeboten wurde, mit den Ergebnissen des Kurzzeitversuches von Rehmann (1981) übereinstimmt, bei dem die Ratten eine einmalige i.p. Injektion von Cadmiumchlorid erhielten. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß auch das Volumen der Spermatocytenkerne durch die Cadmiumverfütterung nach 52 Tagen signifikant zunimmt. Diese Veränderungen könnten durchaus eine stärkere Beeinträchtigung der Fertilität zu diesem Zeitpunkt bewirken.

Offen gelassen werden muß die Frage, ob der festgestellte "Gewöhnungseffekt" mit einer neuerlichen Verbesserung der Fertilität einhergeht - was naheliegt -. Allerdings könnten solche Vergleiche durch das unterschiedliche Alter der Tiere bei Versuchsende möglicherweise nur unbefriedigende Ergebnisse liefern.

Zusammenfassung

90 männliche Ratten wurden im Rahmen eines ausgedehnten "Cadmiumfütterungsversuches" in drei Gruppen zu je 30 Tieren zusammengefaßt, die Trinkwasser mit einer Konzentration von 0, 10 und 100 mg Cadmium/l erhielten.
Je 10 Tiere der 0-ppm-, der 10-ppm- und der 100-ppm-Gruppe wurden nach 13, 52 und 182 Tagen Versuchdauer getötet.
Pro Gruppe wurden die Testes von je 5 Tieren enzymhistochemisch und von allen 10 Tieren histologisch untersucht.

Ergebisse des Untersuchers GRITTERN:

In Übereinstimmung mit früheren Kurzzeitversuchen (Rehmann,1981), bei denen $CdCl_2$ einmalig intraperitoneal injiziert worden war, ergaben die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen enzyhistochemischen Untersuchungen, daß die Ausdehnung der Reaktionszonen der Thiamin-pyrophosphatase (TPP-ase) der späten pachytänen Spermatocyten in Stadium XII einen sensiblen Indikator für die Wirkung von Cd darstellen:
Sowohl in der 100-ppm-Gruppe als auch in der 10-ppm-Gruppe war ein Teil der TPP-ase-Reaktionszonen vergrößert. Dies kam in der Häufigkeitsverteilung der in "Größenklassen" eingeteilten TPP-ase-Reaktionszonen deutlich zum Ausdruck.
Die morphometrischen Untersuchungen der Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen zeigen, daß
1) Erste Wirkungen bereits nach 13 Tagen Versuchsdauer auftreten,
2) Das Maximum der Wirkung sich am 52. Tag nach Versuchsbeginn zeigt,
3) Nach 182 Tagen Versuchsdauer ein "Gewöhnungseffekt" auftritt: Die Häufigkeitsverteilung der Größenklassen der TPPase-Reaktionszonen zeigt zumindest bei den 100 ppm Tieren eine "Normalisierung" des Musters.

Ergebnisse des Untersuchers PAULUS:

Die morphometrischen Untersuchungen der HE-gefärbten Paraplastschnitte zeigen, daß

1) die Tubulusflächen bei den Tieren aller drei Gruppen vom ersten zum zweiten Untersuchungstermin durch eine weitere Entfaltung des Sertolizell-Cytoplasmas zunehmen,

2) die pachytanen Spermatocyten im Stadium XII der Spermatogenese bei den Tieren der 100-ppm-Gruppe nach 52 Tagen Versuchsdauer eine signifikante Kernschwellung zeigen,

3) diese Kernschwellung genau wie die Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen reversibel ist.

Legenden

Abb.1: Metallothioneingehalt (nMol/g) der Lebern 13, 52 und 182 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l.

Abb.2: Metallothioneingehalt (nMol/g) der Nieren 13, 52 und 182 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l.

Abb.3: Metallothioneingehalt (nMol/g) der Nieren 13, 52 und 182 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l bei weiblichen und männlichen Tieren.

Abb.4: Häufigkeitsverteilung der Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen in den pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII 13 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l.

Abb.5: Häufigkeitsverteilung der Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen in den pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII 52 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l.

Abb.6: Häufigkeitsverteilung der Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen in den pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII 182 Tage nach Versuchsbeginn für die Gruppen 0, 10 und 100 mg Cd/l.

Abb.7: Reaktionszonen der TPP-ase im Stadium XII der Spermatogenese der Ratte bei einem Kontrolltier 182 Tage nach Versuchsbeginn. Pachytäne Spermatocyten (mittelgroße Pfeile) , zygotäne Spermatocyten (kleine Pfeile) , Sertolizellen (breite Pfeile) . Objektiv 63x .

Abb.8: Reaktionszonen der TPP-ase im Stadium XII der Spermatogenese der Ratte bei einem Tier der 100-ppm-Gruppe 182 Tage nach Versuchsbeginn. Pachytäne Spermatocyten (mittelgroße Pfeile) , zygotäne Spermatocyten (kleine Pfeile) , Sertolizellen (breite Pfeile) . Objektiv 63x .

Abb.9: Histiogramme der Testisgewichte (Diagramm 1) sowie der morphometrischen Messungen an den Paraffinschnitten der Querschnitte der Tubuli seminiferi des Stadiums XII (Diagramm 2) und der Kernflächen der pachytänen Spermatocyten (Diagramm 3) 13, 52 und 182 Tage nach Versuchsbeginn bei Belastung mit 0, 10 oder 100 mg Cd/l über das Trinkwasser. Signifikante Blähung der Kerne der pachytänen Spermatocyten 52 Tage nach Versuchsbeginn bei 100 mg Cd/l (Pfeil) .

Abb.10: Häufigkeitsverteilung der Ausdehnung der TPP-ase-Reaktionszonen in den pachytänen Spermatocyten des Stadiums XII 24 Stunden nach einmaliger i.p. Applikation von 0.94 mg $CdCl_2$/kg KG nach REHMANN (1981).

Tab.1: Arithmetische Mittelwerte der Reaktionszonen der Thiaminpyrophophatase (TPP-ase) in μm^2 - Spalte 2 - sowie des 95 % Vertrauensbereiches der Mittelwerte.

Tab.2: Geometrische Mittelwerte (μm^2) - Spalten 2, 3, 4, 6, 7 und 8 - sowie der Anzahlen pachytäner Spermatocytenkerne (SpcK) pro Tubulusquerschnitt - Spalte 5 - und des Prozentsatzes der Tubulusfläche, die von pachytänen Spermatocytenkernen eingenommen wird - Spalte 9 -.

Literatur

Allen, J.M. & Slater, J.J.:
A chemical and histochemical study of enzymes dephosphorylating adenosine phosphate esters in the epididymis of normal, castrated and testosterone proprionate treated castrated mice.
Amer.J.Anat. 105, 117-139 (1959).

Allen,J.M. & Slater,J.J.:
A cytochemical study of Golgi associated thiamine pyrophosphatase in the epididymis of the mouse.
J.Histochem.Cytochem. 9, 418-423 (1961).

Alsen, C., Köpcke, C., Ohnesorge, K.F. & Schneider, J.:
Effects of Cadmium on Carbonic Anhydrase Activity and Hemoglobin Content of Rat Testis.
Arch.Toxicol. 37, 39-46 (1976).

Aoki, A. & Hoffer, A.P.:
Reexamination of the Lesions in the Rat Testis Caused by Cadmium.
Biol.Reprod. 18, 579-591 (1978).

Barr, M.jr.:
The Teratogenicity of Cadmium Chloride in Two Stocks of Wistar Rats.
Teratology 7, 237-242 (1973).

Berliner, A.P. & Jones-Witters, P.:
Early effects of a lethal cadmium dose on gerbil testes.
Biol.Reprod. 13, 240-247 (19759.

Chiquoine, A.D.:
Observations on the early events of cadmium necrosis
of the testis.
Anat.Rec. 149, 23-35 (1964).

Clegg, E.J. & Carr, I.:
Changes in the blood vessels of the rat testis and epididymis
produced by cadmium chloride.
J.Path.Bact. 94, 317-322 (1967).

Clegg, E.J., Carr, I. & Niemi, M.:
The Effect of a Second Dose of Cadmium Salts on
Vascular Permeability in the Rat Testis.
J.Endocr. 45, 265-268 (1969).

Clegg, E.J., Carr, I. & Niemi, M.:
The Age at which the Blood Vessels of the Rat Testis
Become Sensitive to Cadmium Salts.
J.Endor. 43, 445-449 (1969).

Clermont, Y.:
Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous
epithelium cycle and spermatogonial renewal.
Physiol.Rew. 52, 198-236 (1972).

Dalqc, A.M.:
Cyto-morpholgie normale du Testicule et Spermatogenese
chez les Mammiferes.
Memoires de l`Acadmie Royale de Medicine Belgique.
Vol. 46 (hors serie), 1-834 (1973).

Dym, M. & Fawcett, D.W.:
The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartimentation of the seminiferous epithelium.
Biol.Reprod. 3, 308-326 (1970).

Dym, M. & Fawcett, D.W.:
Further observations on the numbers of spermatogonia, spermtocytes and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis.
Biol.Reprod. 4, 195-215 (1971).

Ebner,V.v.:
Untersuchungen über den Bau der Samenkanälchen und die Entwicklung der Spermatozoiden bei den Säugethieren und beim Menschen.
In: ROLLETS Untersuchungen aus dem Inst.f.Phys.u.Histol. in Graz. 2, Leipzig (1871).

Fende, P.L. & Niewenhuis, R.J.:
An Electron Microscopic Study of the Effects of Cadmium Chloride on Cryptorchid Testis of the Rat.
Biol.Reprod. 16, 298-305 (1977).

Gunn, S.A. & Gould, T.C.:
Cadmium and other mineral elements.
In: The Testis, Vol. III, Influencing Factors, 377-481;
A.D.Johnson, W.R.Gomes & N.L.Van Denmark, eds.;
Academic Press, New York (1970).

Gunn, S.A., Gould, T.C. & Anderson, W.A.D:
The selective injurious response of testicular and epididymal blood vessel to cadmium and its prevention by zinc.
Amer.J.Pathol. 42, 685-702 (1963).

Härkönen, M. & Kormano, M.:
Acute cadmium-induced changes in the energy metabolism
of the rat testis.
J.Reprod.Fert. 21, 221-226 (1970).

Hilscher,B., Hilscher, W. & Passia, D.:
Histochemische Untersuchungen des Samenepithels
der Ratte unter pathologischen Bedingungen.
Veterinär-Humanmed.Tag. Gießen (1978).

Hilscher, B., Passia, D. & Hilscher, W.:
Kinetics of the Enzymatic Pattern in the Testis.
I. Stage Dependence of Enzymatic Activity and its
Relation to Cellular Interactions in the Testis
of the Wistar Rat.
Andrologia 11/3, 169-181 (1979).

Hodgen, G.D., Butler, W.R. & Gomes, W.R.:
In vivo and in vitro effects of cadmium chloride
on carbonic anhydrase activity.
J.Reprod.Fert. 18, 156-157 (1969).

Johnson, M.H.:
An Immunological Barrier in the Guinea-Pig Testis.
J.Pathol. 101, 129-139 (1970).

Johnson, A.D., Gomes, W.R. & Van Denmark, N.L.:
Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl.
I. Testis and body temperature changes caused by cadmium
and zinc.
J.Reprod.Fert. 21, 383-393 (1970).

Johnson, A.D. & Miller, W.J.:
Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl.
II. Distribution of injected 109 cadmium.
J.Reprod.Fert. 21, 395-405 (1970).

Johnson, A.D. & Turner, P.C.:
Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl.
VI. Testicular and muscle flow changes.
Comp.Biochem.Physiol. Vol.41 A, 451-456 (1972).

Johnson, A.D. & Walker, G.P.:
Early actions of cadmium in the rat and the domestic fowl.
V. Inhibition of cabonic anhydrase.
J.Reprod.Fert. 23, 463-468 (1970).

Kar, A.B. & Das, R.P.:
Testicular changes in rats after treatment with cadmium chloride.
Acta Biol.Med.Ger. 5, 153-173 (1960).

Kormano, M. & Suvanto, O.:
Cadmium-induced changes in the intratesticular pressure in the rat.
Acta Path.Microbiol.Scandinav. 72, 444-445 (1968).

Leblond, C.P. & Clermont, Y.:
Spermiogenesis in rat, mouse, hamster and guinea-pig
as revealed by the periodic acid-fuchsin technique.
Am.J.Anat. 90, 167-215 (1952 a).

Leblond, C.P. & Clermont, Y.:
Definition of the stages of the cycle of the seminiferous
epithelium of the rat.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 55, 548-573 (1952 b).

Lee, I.P. & Dixon, R.L.:
Effects of Cadmium on Spermatogenesis Studied by Velocity Sedimentation Cell Separation and Serial Mating.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 187/3, 641-652 (1973).

Lojda, Z., Gossrau, R. & Schiebler, T.H.:
Enzymhistochemische Methoden.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1976).

Mason, K.E., Brown, J.A., Young, J.O. & Nesbit, R.R.:
Cadmium-induced injury of the rat testis.
Anat.Rec. 149, 135-148 (1964).

Niemi, M. & Kormano, M.:
An Angiographic Study of Cadmium Induced Vascular Lesions in the Testis and the Epididymis of the Rat.
Acta Path.Microbiol.Scandinav. 63, 513-521 (1965).

Ohnesorge, F.K.:
Zur Toxizität von Cadmium.
Schriftenr.Ver.Wasser-Boden-Lufthyg. 40, 131-146 (1973).

Parizek,J.:
Sterilisation of the male by cadmium salts.
J.Reprod.Fert. 1, 294-309 (1960).

Parizek,J.:
The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc.
J.Endocrinol. 15, 566-63 (1957).

Passia, D., Hilscher, B. & Goslar,H.G.:
Histochemische Darstellung der Thiaminpyrophosphatase während der Spermatogenese der adulten Wistarratte.
Vetrinär-Humanmediz.Tag. Berlin (1977).

Passia, D., Hilscher, B., Hilscher, W. & Goslar,H.G.:
Das Verhalten einiger Hydrolasen und Oxidoreduktasen
während der verschiedenen Abschnitte der Spermatogenese
der Ratte.
Verh.Anat.Ges. 72, 533-535 (1977).

Pearse, A.G.E.:
Histochmistry, Theoretical and Applied.
Vol. 2, 3rd ed.. Churchil Livingstone,
Edinburgh and London (1972).

Perey, B., Clermont, Y. & Leblond, C.P.:
The wave of the seminiferous epithelium in the rat.
Am.J.Anat. 108, 47-77 (1961).

Rehmann, C.:
Das Verhalten der Thiaminpyrophosphatase und der
Adenosintriphosphatase im Hoden unter einer minimalen
Schädigungsdosis $CdCl_2$, untersucht an Wistarratten
anhand enzymhistochemischer Methoden.
Inaug.Diss.Univ.Düsseldorf (1981).

Setchell, B.P. & Waites, G.M.H.:
Changes in the Permeability of the Testicular Capillaries
and of the Blood-Testis Barrier after Injection of
Cadmium Chloride in the Rat.
J.Endocr. 47, 81-86 (1970).

Setchell, B.P., Vogelmayr, J.K. & Waites, G.M.H.:
A blood-testis barrier restricting passage from blood
into the rat testis, but not into lymph.
J.Physiol.London 200, 73-85 (1969).

Singhal, R.L., Merali, Z. & Hrdina, P.D.:
Aspects of the biochemical toxicology of cadmium.
Fed.Proc. 35/1, 75-80 (1976).

Squibb, K.S., Cousins, R.J., Silbon, B.L. & Levin, S.:
Liver and Intestinal Metallothionein: Function in
Acute Cadmium Toxicity
Exp.Mol.Pathol. 25, 163-171 (1976).

Szadkowski, D., Schaller, K.H. & Lehnert, G.:
Renale Cadmiumausscheidung, Lebensalter und arterieller Blutdruck.
Z.klin.Chem.klin.Biochem. 7, 551-552 (1969).

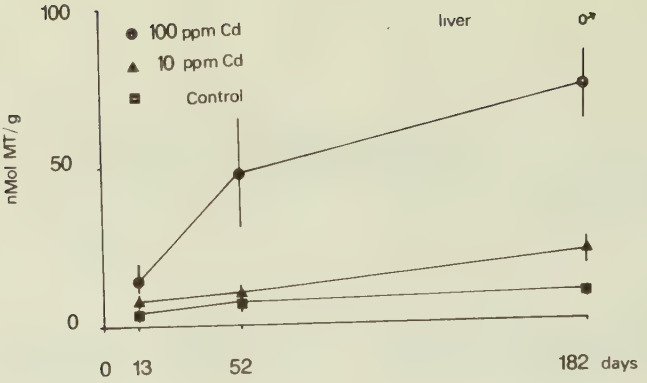
Vilar, O., Cerro, M.I.P. del & Mancini, R.E.:
Sertoli Cell as a "bridge cell" between the basal membrane
and the germinal cells.
Exp.Cell Res. 27, 158-161 (1962).

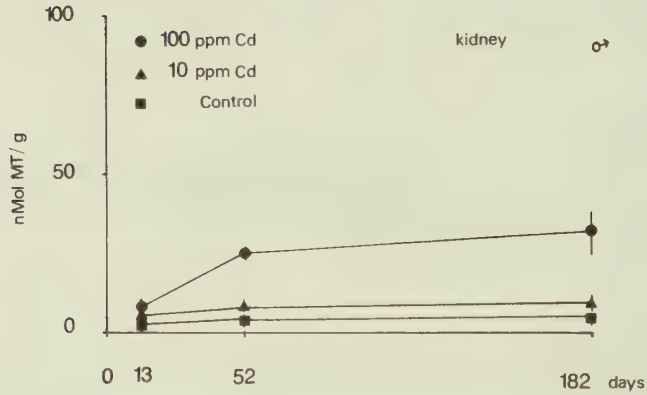
Waites, G.M.H. & Setchell, B.P.:
Changes in blood flow and vascular permeability of the testis,
epididymis and accessory reproductive organs of the rat after
administration of cadmium chloride.
J.Endocr. 34, 329-342 (1966).

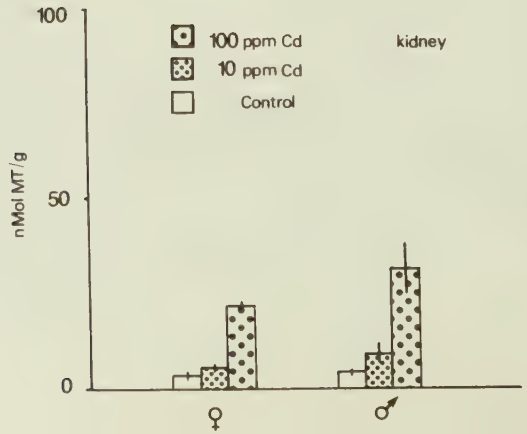
Webb,M.:
Biochemical Effects of Cd^{2+}-Injury in the Rat and Mouse Testis.
J.Reprod.Fert. 30, 83-98 (1972).

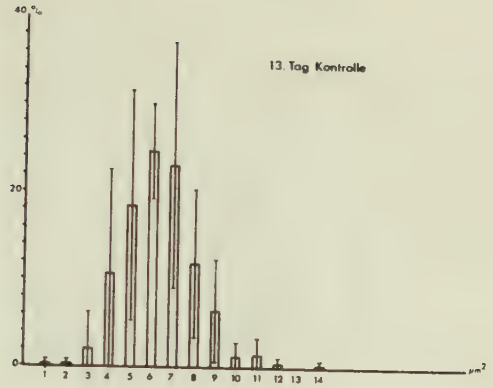
Webb,M.:
Protection by Zinc Ions against the Toxicity of Cadmium Ions.
Biochem.J. 124, 17-18 (1971).

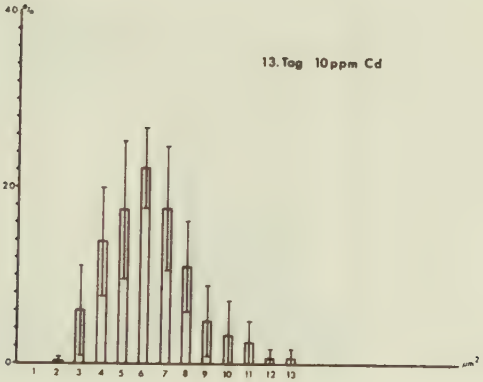
Wisniewska-Knypl, J.M., Jablonska, J. & Myslak, Z.:
Binding of Cadmium on Metallothionein in Man:
An Analysis of Fatal Poisoning by Cadmium Iodide.
Arch.Toxicol. 28, 45-55 (1971).

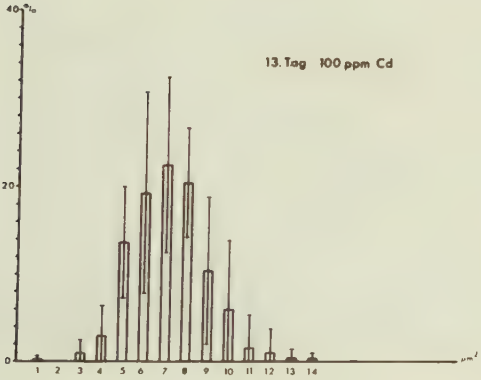

100
50
0
nMol MT/g
100 ppm Cd
10 ppm Cd
Control
liver
♂
0
13
52
182
days

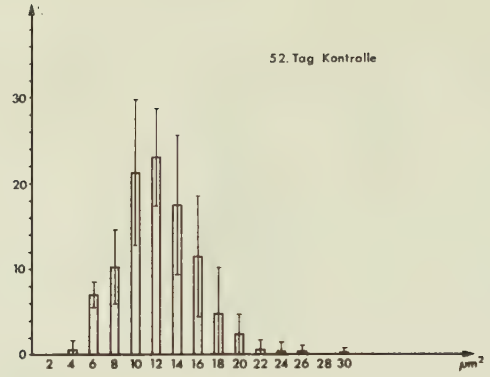

100
50
0
nMol MT/g
100 ppm Cd
10 ppm Cd
Control
kidney
♂
0
13
52
182
days

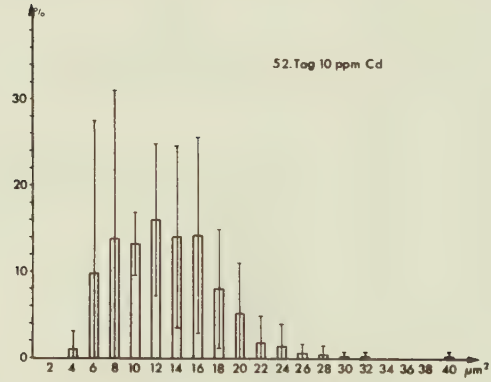

100
50
0
nMol MT/g
100 ppm Cd
10 ppm Cd
Control
kidney
♀
♂

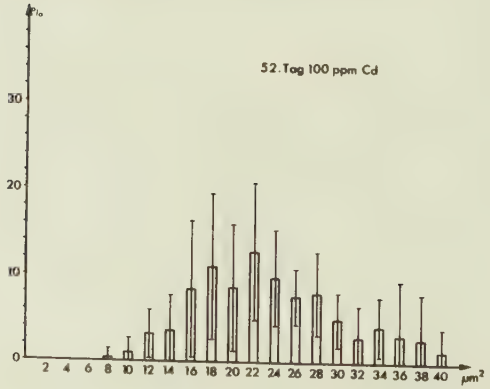

13. Tag Kontrolle
40 %
20
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µm²

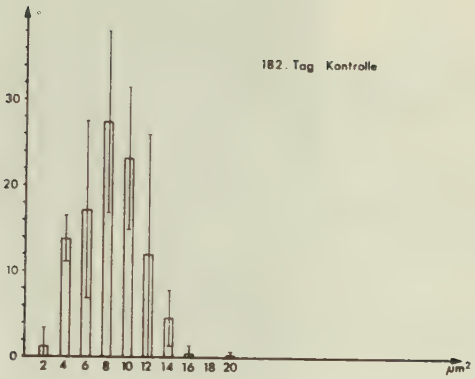

13. Tag 10 ppm Cd
40 %
20
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
µm²

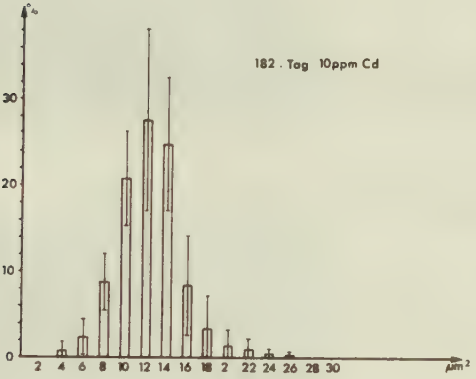

13. Tag 100 ppm Cd
40 %
20
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
µm²

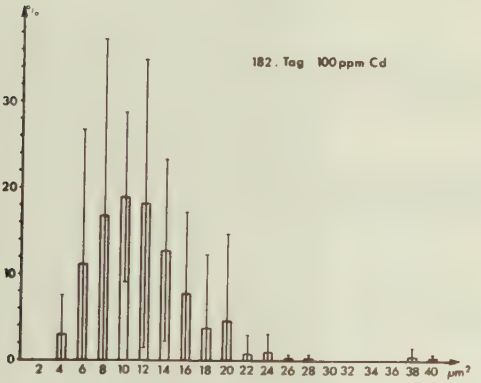

52. Tag Kontrolle
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
µm²

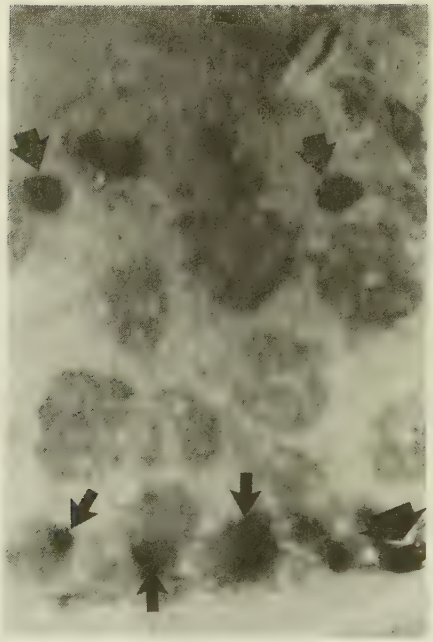

%
52. Tag 10 ppm Cd
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 µm²


%
52. Tag 100 ppm Cd
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 µm²

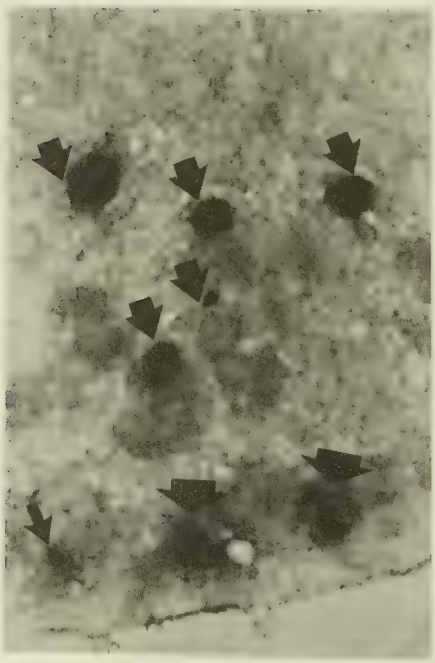

182. Tag Kontrolle
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
µm²


182. Tag 10ppm Cd
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 2 22 24 26 28 30
µm²

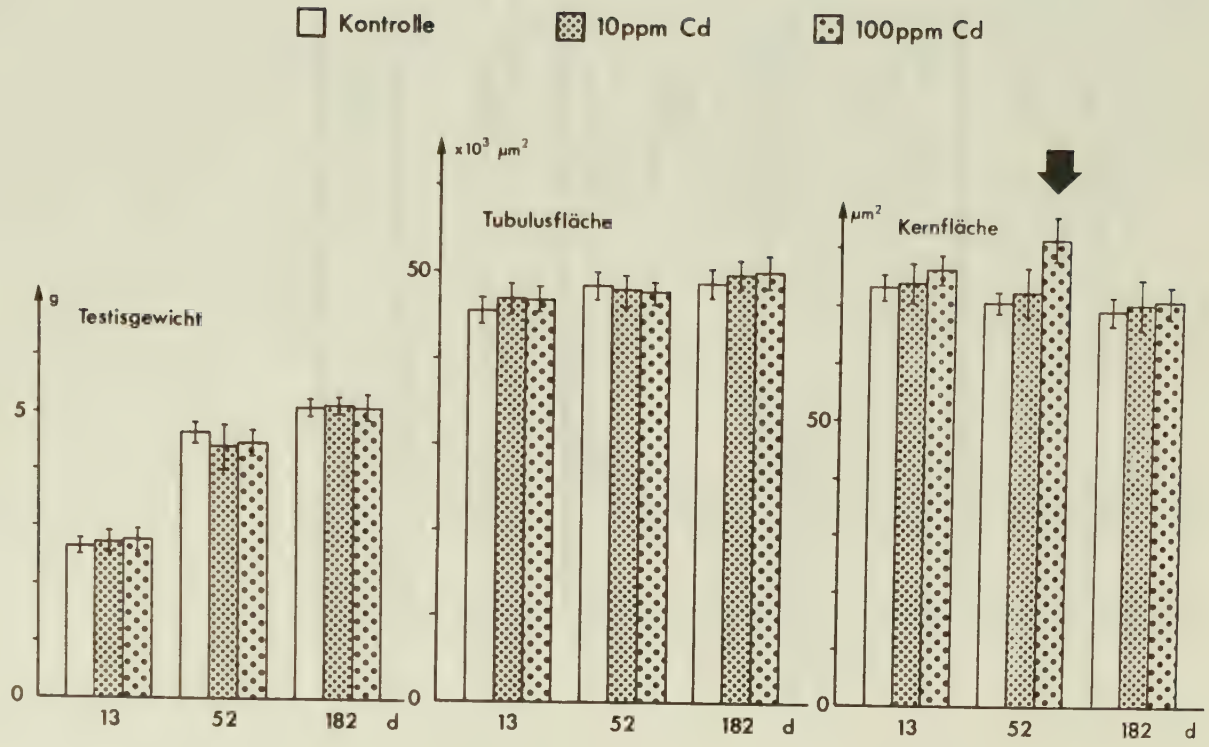

182. Tag 100ppm Cd
30
20
10
0
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40
µm²

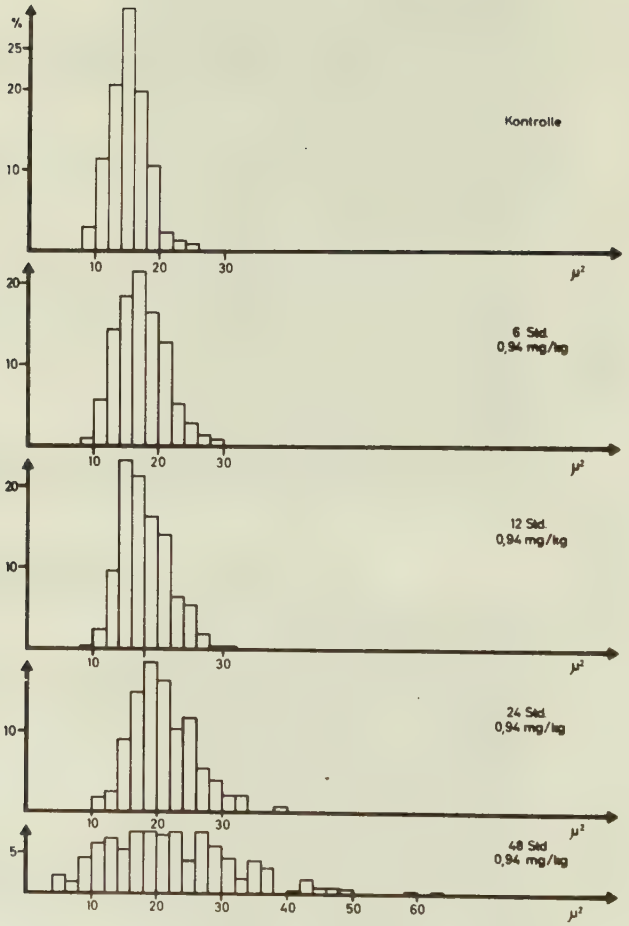


7



8


Kontrolle
10ppm Cd
100ppm Cd
g
Testisgewicht
5
0
13
52
182
d
x10³ µm²
Tubulusfläche
50
0
13
52
182
d
µm²
Kernfläche
50
0
13
52
182
d


%
25
20
10
Kontrolle
10
20
30
µ²
20
10
6 Std.
0,94 mg/kg
10
20
30
µ²
20
10
12 Std.
0,94 mg/kg
10
30
µ²
10
24 Std.
0,94 mg/kg
10
20
30
µ²
5
48 Std.
0,94 mg/kg
10
20
30
40
50
60
µ²

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. W. Hilscher, Abteilungsleiter der Abteilung für experimentelle Pathologie des Instituts für Umwelthygiene an der Universität Düsseldorf danken wir für die wissenschaftliche und technische Unterstützung, diese Arbeit an seinem Institut erstellen zu können.

Herrn Prof. Dr. H. Böttger, Direktor der Westdeutschen Kieferklinik danken wir für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Dr. J. Abel aus dem Institut für Toxikologie der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. F.K. Ohnesorge) danken wir für die toxikologische Betreuung der Tierversuche und die Überlassung der toxikologischen Befunde.

Frau B. Hilscher danken wir für die vielen fruchtbaren Diskussionen und ihr stetes Interesse am Fortgang der Arbeit. Ihre zahlreichen Anregungen und Ratschläge waren für die Fertigstellung sehr wertvoll.

Frau R. Grover und Frau B. Jansing sind wir für die Betreuung bei der Verarbeitung der Organpräparate zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 04.06.54 wurde ich, Norbert Grittern, als drittes Kind der Eheleute Josef und Maria Grittern, geb. Jaeger, in Heinsberg-Horst geboren. Von 1961 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Heinsberg-Horst, wechselte danach für zwei Jahre zur Städtischen Realschule in Geilenkirchen, von dort 1966 zum Steyler Aufbaugymnasium ebenfalls in Geilenkirchen und 1971 zum Städtischen Aufbaugymnasium in Köln, wo ich 1973 das Abitur bestand.
Im Sommer des selben Jahres wurde ich zur Bundeswehr eingezogen.
Zum Wintersemester 1974/75 immatrikulierte ich mich an der RWTH Aachen in das Studienfach Wirtschaftswissenschaften. Mit Beginn des WS 1976/77 wechselte ich zur Universität Düsseldorf und begann das Studium der Zahnmedizin, das ich im SS 1982 mit der zahnärztlichen Prüfung vor dem Prüfungsausschuß der Universität Düsseldorf erfolgreich beendete.

Lebenslauf

Name:	Karl Paulus
geboren:	13. Juli 1952 in Trier
Mutter:	Mathilde Paulus, geb. Schmidt
Vater:	Karl-Josef Paulus, Kaufmann

Schulbildung

1959-1963	Volksschule St. Agritius in Trier
1963-1970	Neusprachliches Hindenburg-Gymnasium in Trier bis zur Mittleren Reife
1970-1972	Zweijährige Höhere Handelsschule in Trier
1972-1975	Wirtschaftsgymnasium in Trier
21. Mai 1975	Reifeprüfung

Studium

1975-1976	Volkswirtschaftslehre an der Universität Trier
1977-1983	Zahnheilkunde an der Universität Düsseldorf
Prüfungen:	24. August 1978 Vorphysikum
	06. Oktober 1980 Physikum
	13. Mai 1983 Staatsexamen
Seit Juni 1983:	Assistenzarzt der Prothetischen Abteilung der Westdeutschen Kieferklinik in Düsseldorf Direktor: Prof. Dr. H. Böttger